

BW-MPD1211 质粒小量提取试剂盒 I（磁珠法）

目录

产品组成	2
产品简介	2
保存条件	2
实验前准备工作	2
实验前需准备的材料	3
安全信息	3
实验步骤	3
32A 自动化提取 SOP	5
96A 自动化提取 SOP	6
购买须知	8
附录	9

产品组成

Catalog#	BW-MPD1211-A00-00	BW-MPD1211-A00-01	BW-MPD1211-A00-02
Preps	50	250	1000
Plasmid-L Beads	1.25 mL	6.25 mL	26 mL
Buffer A1	9 mL	43 mL	180 mL
Buffer B1	9 mL	43 mL	180 mL
Buffer N1	13 mL	61 mL	245 mL
Buffer MKB*	20 mL	95 mL	190 mL x 2
DNA Wash Buffer**	20 mL	40 mL x 2	80 mL x 4
RNase A (20 mg/mL)	65 µL	320 µL	620 µL x 2
Elution Buffer	6 mL	26 mL	100 mL
User Manual	1	1	1

*Buffer MKB：使用前请将 20 mL (BW-MPD1211-A00-00) 或 95 mL (BW-MPD1211-A00-01) 或 190 mL (BW-MPD1211-A00-02) 96-100%乙醇加入至 Buffer MKB 瓶内。

**DNA Wash Buffer: 使用前请将 80 mL (BW-MPD1211-A00-00) 或 160 mL (BW-MPD1211-A00-01) 或 320 mL (BW-MPD1211-A00-02) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。

产品简介

质粒小提试剂盒（磁珠法）是采用磁珠与质粒 DNA 的可逆性吸附系统，允许 DNA 和磁珠高效结合，而蛋白质和其他污染物在一定条件下被清除。核酸很容易用无菌水或洗脱缓冲液洗脱。纯化后的 DNA 可用于下游应用，如酶切图谱、文库筛选、测序、基因治疗和基因接种等。

本试剂盒用于快速高效提取 1~2 mL 菌液的质粒 DNA，最高产量可达到 20 µg。本产品可匹配多种自动化核酸提取仪，如 Allsheng Auto-Pure 96A。

保存条件

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。RNase A 可储存于室温（15-25℃），长期储存于 4℃。Plasmid-L Beads 于 4℃ 保存。其余试剂及用品可保存于室温（15-25℃）。

实验前准备工作

通过检查本用户手册，准备好所有组件和所有必要的材料，熟悉每一步，并特别注意以下几点。

- **RNase A:** 20 mg/mL，使用前需将提供的所有 RNase A 瞬时离心。实验前可将 RNase A 加入 Buffer A1 中混匀后使用，并于 4℃ 保存。
- **Buffer B1:** 低于室温时会沉淀，请于 37℃ 水浴加热至沉淀完全溶解，溶液澄清。使用后保证 Buffer B1 瓶盖拧紧。
- **Plasmid-L Beads:** 使用前需充分涡旋混匀。建议根据自身使用情况进行分装，避免反复开盖和涡旋降低磁珠磁性，磁珠碎片增加。
- **DNA Wash Buffer:** 使用前请加入瓶身相应的 96-100% 乙醇至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 若收集管不适合高速离心机转子，或无高速离心机，可以进行低速离心后，再用过滤器过滤来收集裂解上清液。
- 在室温下 (15-25℃) 进行所有离心操作。

实验前需准备的材料

- 96-100% 乙醇
- 水浴锅 (65℃)
- 高速离心机
- 磁力架或自动化仪器
- 1.5 mL 高速离心管

安全信息

Buffer N1 和 Buffer MKB 中含有离液盐，与漂白剂结合可能形成活性化合物。不要直接向废料中添加漂白剂或酸性溶液。

实验步骤

1. 接种新鲜的菌液到 1 mL-2 mL LB 培养基 (含适量抗生素)，37℃ 震荡培养 14-16 h。

注：制备初始培养菌液的最佳方法：从新鲜的选择性培养基上挑取新鲜的单菌落至含有适量抗生素的 LB 培养基内，37℃，震荡 (约 250 rpm) 培养 6-8 h。OD600 介于 2.0-3.0。

注：请勿使用保存在 4℃ 的菌液作为初始菌液。

注：请勿使用过量菌液。

2. 5,000 rpm 离心 10 min, 弃上清, 将管子倒置于纸巾上, 去除残留培养基 (尽量除干净)。

注: 残留培养基会导致细胞裂解不良, 从而降低 DNA 产量。

3. 加入 **170 μ L Buffer A1** (确保其中已加入 RNase A), 用移液器或涡旋震荡仪充分悬浮细菌细胞。

注: 充分重悬对于获得最佳产量是至关重要的。

4. 加入 **170 μ L Buffer B1**, 必须轻轻地反转 5-10 次以混匀 (不要涡旋), 室温静置 5 min 以内, 裂解液整体表现为澄清。

注: 孵育时间不能超过 5min。Buffer B1 若产生沉淀, 须在 37℃ 加热, 使沉淀溶解后再使用。

5. 加入 **240 μ L Buffer N1**, 立即手动震荡 5-10 次混匀, 产生白色沉淀。

注: 一定要混合均匀, 若混合物仍然呈团块、褐色、粘稠状, 需要更充分混匀来完全中和。

6. 将裂解液移入高速离心管, 室温 12000 rpm 离心 10 min。

注: 若沉淀离心不完全, 可以再离心 5min; 若没有高速离心机, 可低速离心 (5000 rpm 左右) 后取相对澄清的上清液。

7. 取 530 μ L 步骤 6 中的上清液转移至一个干净的 1.5 mL 离心管中 (避免吸到沉淀), 加入 **25 μ L Plasmid-L Beads**, 涡旋混匀 1 min 左右。

注: Plasmid-L Beads 使用前需充分涡旋混匀。

8. 混匀后室温静置 5-10 min, 期间需手动或涡旋混匀 3-5 次, 之后上磁力架静置 1 min 左右 (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。

注: 孵育期间一直混匀有助于提高得率。

9. 从磁力架上取下离心管, 加入 **750 μ L Buffer MKB**, 涡旋混匀 1 min, 之后上磁力架静置 1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。

10. 从磁力架上取下离心管, 加入 **750 μ L DNA Wash Buffer** (确保加入 96-100%乙醇), 涡旋混匀 1 min, 之后上磁力架静置 1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠。重复此步骤。

注: DNA Wash Buffer 使用前请加入瓶身相应的 96-100%乙醇。

11. 在磁力架上晾干 5-10 min。除残留乙醇, 以便获得最佳洗脱。

注: 要注意观察磁珠是否过于干燥, 过于干燥会影响洗脱效果。

12. 从磁力架上取下离心管, 加入 **50-100 μ L Elution Buffer** (65℃ 水浴锅预热) 或者细胞培养水, 涡旋混匀 1 min, 孵育 5 min (可于室温或 65℃ 孵育), 期间混匀 1-2 次再上磁力架, 静置 2 min 左右 (确保所有磁珠被吸附即可), 吸取澄清的液体 (产物) 至无菌离心管中, 检测后于 -20℃ 或 -80℃ 保存。

注: 小体积 (50 μ L) 洗脱可能会洗脱不完全, 得率有所降低。如有必要可进行二次洗脱, 提高 DNA 产量, 或者直接 100 μ L 洗脱。

如需购买预装版试剂盒以及自动化平台匹配, 请拨打联系电话: 400-115-2855。

32A 自动化提取 SOP

适配 Allsheng Auto-Pure 32A

- 按照前面的**步骤 1-6** 进行操作得到裂解液上清液。
- 取 96 孔深孔板，按照下表 1 加入样本和试剂至板中。若为非预装版试剂盒，以下试剂都需自行加入。

注：每一孔的总体积不能超过 1000 μL ，否则可能溢出。

表 1. 96 孔板设置

孔板每列名称	对应仪器板位	样本/试剂	体积 (μL)	预分装版试剂盒说明	试剂说明
Banding	1/7 列	预处理混合液	530	需用户自行加入	尽量取澄清的裂解液。
Beads	2/8 列	Plasmid-L Beads	25	已分装，无需用户自行加入	注：Beads 在使用前需涡旋混匀 1 min，充分混匀磁珠，以确保加入各孔无差异
		磁珠保存液(或 ddH ₂ O)	75	已分装，无需用户自行加入	
Wash 1	3/9 列	Buffer MKB	750	已分装，无需用户自行加入	/
Wash 2	4/10 列	DNA Wash Buffer	750	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Wash 3	5/11 列	DNA Wash Buffer	750	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Elution	6/12 列	Elution Buffer	100	已分装，无需用户自行加入	洗脱体积可根据具体要求调整。至少加入 60 μL Elution Buffer 进行洗脱。

- 启动仪器，在仪器中放置好新的洁净磁棒套，并将装有样品和试剂的 96 孔板安放至仪器中对应的板位上。
- 执行程序请参考表 2。（该程序设定仅供参考）
- 待程序完成后收集产物：取出 96 孔板，吸取 6/12 列 Elution 孔内的提取产物至无菌离心管中，检测后于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 或 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

表 2. 提取程序

步骤	名称	孔位	混合时间 (min)	吸磁时间 (s)	等待时间 (min)	容积 (μL)	混合速度 (1-10)	温度 ($^{\circ}\text{C}$)	混合位置 (0-100%)	混合幅度 (1-100%)	吸磁位置 (0-100%)	吸磁速度 (1-10)
1	Beads	2	0	10	0	100	1	OFF	0	80	0	1
2	Banding	1	5	60	0	530	5	OFF	0	80	0	1
3	Wash1	3	1	30	0	750	8	OFF	0	80	0	1
4	Wash2	4	1	30	0	750	8	OFF	0	80	0	1

5	Wash3	5	1	30	0.5	750	8	OFF	0	80	0	1
6	Elute	6	5	60	0	100	8	70	0	80	0	1

注：1、设置升温动作同步；吸磁方式：往复。

2、若对本实验还有疑问请联系倍沃技术支持，电话：400-115-2855。

96A 自动化提取 SOP

适配 Allsheng Auto-Pure 96A

- 按照前面的**步骤 1-6** 进行操作得到裂解液上清液。
- 取 96 孔深孔板，按照下表 1 加入样本和试剂至板中。若为非预装版试剂盒，以下试剂都需自行加入。

注：每一孔的总体积不能超过 1000 μL ，否则可能溢出。

表 1. 96 孔板设置

96 孔板 编号	对应仪 器板位	样本/试剂	体积 (μL)	预分装版试剂盒说明	试剂说明
Banding	1	预处理裂解液	530	需用户自行加入	尽量取澄清的裂解液。
Beads	2	Plasmid-L Beads	25	已分装，无需用户自行 加入	注：Beads 在使用前需涡旋混匀 1 min， 充分混匀磁珠，以确保加入各孔无差 异
		磁珠保存液(或 ddH ₂ O)	75	已分装，无需用户自行 加入	
		磁棒套	/	/	
Wash 1	3	Buffer MKB	750	已分装，无需用户自行 加入	/
Wash 2	4	DNA Wash Buffer	750	已分装，无需用户自行 加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙 醇
Wash 3	5	DNA Wash Buffer	750	已分装，无需用户自行 加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙 醇
Elution	8	Elution Buffer	100	已分装，无需用户自行 加入	洗脱体积可根据具体要求调整。至少 加入 60 μL Elution Buffer 进行洗脱。

- 启动仪器，在仪器中放置好新的洁净磁棒套，并将装有样品和试剂的 96 孔板安放至仪器中对应的板位上。

- 执行程序请参考表 2。（该程序设定仅供参考）
- 待程序完成后收集产物：取出 96 孔板，吸取 Elute 板（8 号位）内的提取产物至无菌离心管中，检测后于 -20°C 或 -80°C 保存。

表 2. 提取程序

步骤	名称	板位	混合时间 (min)	混合幅度 (%)	等待时间 (min)	容积 (μL)	混合速度 (1-10)	温度 (°C)	吸磁段数 (0-5)	循环次数 (1-10)	吸磁速度 (1-10)	第一段吸磁时间(s)	第二段吸磁时间(s)	第三段吸磁时间(s)	第四段吸磁时间(s)	第五段吸磁时间(s)	液面停留 (0-30 s)
1	Load	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Beads	2	0	80	0	100	1	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
3	Banding	1	5	80	0	530	5	OFF	3	2	1	1	1	1	-	-	0
4	Wash1	3	1	30	0	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
5	Wash2	4	1	30	0	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
6	Wash3	5	1	30	0.5	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
7	Elute	8	5	80	0	100	8	70	2	3	1	10	10	-	-	-	10
9	Unload	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：1、设置升温动作同步；降温风扇关闭，降温动作同步。

2、若对本实验还有疑问请联系倍沃技术支持，电话：400-115-2855。

购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电 400-115-2855 与我们联系，或访问我们的网站 www.beiwobiomedical.com。

附录

表 1.32 通道预装版试剂盒规格及型号目录表

Catalog#	BW-MPD1211-A32 -10	BW-MPD1211-A32 -11	BW-MPD1211-A32- 12
Preps	1 x 32	10 x 32	20 x 32
8 孔磁棒套	4	40	80
Plasmid-L Beads	25 μ L	25 μ L	25 μ L
Buffer A1	6 mL	55 mL	110 mL
Buffer B1	6 mL	55 mL	110 mL
Buffer N1	8 mL	77 mL	155 mL
Buffer MKB	750 μ L	750 μ L	750 μ L
DNA Wash Buffer	750 μ L	750 μ L	750 μ L
RNase A (20 mg/mL)	40 μ L	390 μ L	770 μ L
Elution Buffer	100 μ L	100 μ L	100 μ L
User Manual	1	1	1

*Buffer A1、Buffer B1、Buffer N1 以及 RNase A 为瓶装试剂总剂量，其余上述试剂均为单孔试剂量。其中 Plasmid-L Beads 置于磁珠保存液中，总体积为 100 μ L。

*一套耗材包括 4 个 8 孔磁棒套和 2 块 96 孔深孔板。

表 2.96 通道预装版试剂盒规格及型号目录表

Catalog#	BW-MPD1211-A96 -10	BW-MPD1211-A96 -11	BW-MPD1211-A96- 12
Preps	1 x 96	4 x 96	10 x 96
96 孔磁棒套	1	4	10
Plasmid-L Beads	25 μ L	25 μ L	25 μ L
Buffer A1	17 mL	66 mL	164 mL
Buffer B1	17 mL	66 mL	164 mL
Buffer N1	24 mL	93 mL	231 mL
Buffer MKB	750 μ L	750 μ L	750 μ L
DNA Wash Buffer	750 μ L	750 μ L	750 μ L
RNase A (20 mg/mL)	120 μ L	465 μ L	1.2 mL
Elution Buffer	100 μ L	100 μ L	100 μ L
User Manual	1	1	1

*Buffer A1、Buffer B1、Buffer N1 以及 RNase A 为瓶装试剂总剂量，其余上述试剂均为单孔试剂量。其中 Plasmid-L Beads 置于磁珠保存液中，总体积为 100 μ L。

*一套耗材包括 1 个 96 孔磁棒套和 6 块 96 孔深孔板 (Plasmid-L Beads x1, Buffer KB x1, DNA Wash Buffer x2, Elution Buffer x1, 空板 x1)。